

5 Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde die mangelnde Verwertung der Aminosucker GlcN und GlcNAc bei atypischen und typischen *C. albicans* untersucht und verglichen und auf einen Defekt des Enzyms Glucosamin-6-Phosphat-Desaminase (GNPDA) zurückgeführt. GlcNAc hat eine große Bedeutung für die Morphologie und Physiologie von *C. albicans*. Unabhängig davon, dass GlcNAc seinen eigenen Stoffwechselweg induziert, ist der Aminosucker ein wichtiger Bestandteil des Chitins der Zellwand und verschiedenster Glykoproteine.

Im Metabolismus der beiden Aminosucker verbindet die GNPDA deren Verwertung mit dem Embden-Meyerhof-Weg. Somit hat die GNPDA eine Schlüsselfunktion bei der Nutzung der Aminosucker als einzige Kohlenstoff-Quelle.

Um die Ursache der fehlenden Assimilation von GlcN und GlcNAc zu klären, wurden in dieser Arbeit die Enzymaktivität und mRNA-Synthese bei typischen und atypischen Stämmen, die mit und ohne Zusatz an GlcNAc kultiviert wurden, untersucht. Sowie Mutationen in DNA- und Proteinsequenzen bei diesen Stämmen nachgewiesen.

Die Bestimmung der Enzymaktivität ließ vermuten, dass bei den atypischen Stämmen ein Defekt in der GNPDA vorliegt, so dass sie nicht durch GlcNAc induziert werden kann (siehe Abbildung 3.1). Lediglich einer der untersuchten atypischen Stämme (AM 1649) zeichnete sich durch eine geringe Induzierbarkeit aus und unterschied sich so von den anderen atypischen Stämmen. Die fehlende Stimulation der Enzymaktivität kann folgende Gründe haben:

- Defekt in der Promotor-Region, so dass die Transkription nicht gesteigert werden kann
- Mutationen im Transportsystem für GlcNAc sowohl im konstitutiv produzierten primären als auch im GlcNAc-spezifischen Aufnahmesystem können dazu führen, dass die GlcNAc-Spiegel in der Zelle nicht ausreichen, um die Transkription der mRNA für die Enzyme des GlcNAc-Stoffwechsels hochzuregulieren
- Mutationen in der Proteinsequenz, die dazu führen, dass die Enzymaktivität bei Zusatz von GlcNAc nicht weiter gesteigert werden kann

Die Hypothese, dass die verminderte Enzymaktivität darauf beruht, dass die geringen Glucosamin-6-Phosphat-Spiegel durch eine niedrigere Transkriptionsrate bewirkt wurde, wurde durch Bestimmung der GNPDA-mRNA in induzierten und nicht induzierten Kulturen untersucht. Dabei zeigt sich kein Unterschied zwischen den induzierten und nicht induzierten mRNA-Mengen bei typischen und atypischen *C. albicans*-Stämmen. Die mangelnde Verwertung

der Aminosucker scheint somit nicht durch Unterschiede in der Expression des NAG1-Gens in atypischen Stämmen bedingt zu sein. Weiterführende Untersuchungen zur Induzierbarkeit des Promotor-Reglons sollten angeschlossen werden, um diese Vermutung zu bestätigen bzw. zu widerlegen.

Da unterschiedliche Systeme für die Aufnahme der Aminosucker GlcN und GlcNAc verantwortlich sind, erscheint eine parallele Störung der Transportmechanismen als Ursache für die mangelnde Verwertung der Aminosucker durch die atypischen Stämme als nicht wahrscheinlich.

Die Unterschiede zwischen den typischen und atypischen Stämmen, die sich in der SSCP-Analyse und der Enzymbestimmung abzeichnen, spiegeln sich in den NAG1-DNA- und abgeleiteten Proteinsequenzen wider. Die beiden atypischen Stämme AM 1649 und AA 1622b weisen dabei andere Mutationen als die übrigen atypischen Stämme auf, was frühere Befunde über eine besondere taxonomische Stellung dieser Stämme bestätigt. Sowohl bei diesen beiden als auch bei den übrigen atypischen Stämmen sind Aminosäure-Austausche nachweisbar, die Polarität und Ladung des Enzymmoleküls beeinflussen. Es kann deshalb angenommen werden, dass eine veränderte Tertiärstruktur zu einer verminderten Stimulierbarkeit des Enzyms bei den atypischen Stämmen führt. Eine solche Konformationsänderung kann zur Folge haben, dass das Substrat nicht mehr richtig binden oder das Enzym nicht mehr allosterisch aktiviert werden kann. Analysen der Proteinstruktur müssen angeschlossen werden, um diese Vermutungen zu belegen.